



XXII CONGRESSO
BRASILEIRO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
23 a 26 de Setembro de 2018
Hotel Maksoud Plaza
São Paulo – SP



XVII ENCONTRO BRASILEIRO
SOBRE O ENSINO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
27 a 28 de Setembro de 2018
USP
São Paulo – SP

IMOBILIZAÇÃO DE PAPAÍNA POR DIFUSÃO FÍSICA EM MEMBRANAS DE ALGINATO DE CÁLCIO PARA USO COMO CURATIVO BIOATIVO

MOREIRA FILHO R. N. F.^{1,3}, ANDRADE F. K.², VIEIRA R. S.³ ROSA M. F.^{1,2}

¹ Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Ceará.

² Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, Ceará.

³ Grupo de Pesquisa em Adsorção, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará.

E-mail para contato: rodrigoppsa@gmail.com

RESUMO – *O alginato é um polissacarídeo encontrado nas paredes celulares de algas marrons. Tem excelentes propriedades para uso como biomaterial, pois é biodegradável, biocompatível e não tóxico. Foi proposto a incorporação de uma droga imobilizada em membranas de alginato para melhorar e acelerar a taxa de cicatrização de feridas. A papaína é uma droga encontrada comercialmente e usada em formulações para o tratamento de lesões cutâneas. A enzima foi imobilizada por difusão física, onde as membranas foram imersas em solução contendo papaína por 24 horas e a enzima se difunde pelos poros do biopolímero. Para tal, foram estudadas as condições do meio para a imobilização: concentração, pH e temperatura. Verificou-se que as melhores condições de imobilização foram em meio ácido, com 2% de papaína e a 25°C. Através de teste de atividade constatou-se que a enzima continuou ativa após a sua imobilização. Seu perfil de liberação mostrou que 97% da enzima foi desprendida. Com base nesses testes iniciais, foi possível obter um biomaterial com boas propriedades para ser aplicado como curativo bioativo.*

1. INTRODUÇÃO

As lesões de pele causadas por acidentes e cirurgias são comuns e necessitam de atenção, uma vez que, se não tratadas adequadamente, podem se tornar infectadas e, dependendo do grau da inflamação, podem causar a perda do membro ou mesmo a morte. Para esses casos é necessário o uso de auxílio externo: os curativos.

O alginato é um polissacarídeo encontrado nas paredes celulares de algas marrons. Sua cadeia é composta por dois monômeros: β -D-manurônico (M) e α -L-gulurônico (G), com razões aleatórias M/G dependendo da fonte. Eles estão ligados por ligações glicosídicas no carbono 1 e 4. É encontrado em cadeia repetida (GGGG ou MMMM) e cadeia alternada (GMGM). A cadeia MMMM é linear, enquanto a GGGG é espacial.

A imobilização de papaína em membranas de alginato é interessante devido à estabilidade mecânica, e assim, uma melhor manipulação da enzima é possível. O alginato possui alta capacidade de imobilização, pois possui alta porosidade. O polímero também protege a enzima de fatores externos como temperatura e oxidação.

Papaína é uma protease encontrada no látex do mamoeiro *Carica papaya*. Essa enzima age na degradação do tecido morto (desbridamento autolítico), assim as novas células podem crescer livremente. Ela também tem propriedades anti-inflamatória, bacteriostática e bactericida.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Membranas de Alginato de Cálcio com Papaína imobilizada.

Em um Becker, 2g de alginato de sódio foram adicionados em 100 ml de água deionizada sob agitação constante (1000 rpm) e temperatura constante (80 °C). Após uma hora, adicionou-se 3 mg de cloreto de cálcio e agitou-se durante 30 min. 25g do gel foram distribuídos em placas de Petri de 5 cm de diâmetro.

As membranas foram postas para evaporação à 25°C por 24 horas. Após, as placas foram imersas em solução de cloreto de cálcio (40g/L) por uma hora. As membranas foram lavadas com água destilada.

A imobilização aconteceu por difusão física onde as membranas foram imersas em solução de papaína por 24 horas. Diversos meios foram testados para maximizar a imobilização. Utilizou-se concentração de enzima de 0,5%, 1%, 1,5% e 2% (m/m). Também variou-se o pH do meio, utilizando-se 8, 7 e 5,8. Variou-se a temperatura de imobilização, utilizando 25°C, 35°C e 45°C.

2.2. Teste de atividade enzimática

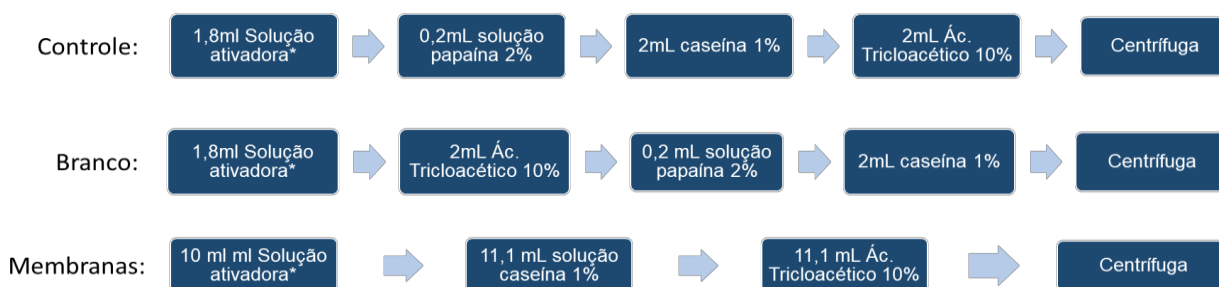


Figura 1 – Metodologia do teste de atividade enzimática. *0,038 mol/L de EDTA e 0,034 mol/L de cisteína (PBS).

2.3. Ensaios de liberação da papaína

Para medir a taxa de liberação da papaína nas membranas de alginato, foi realizado um

experimento em que as membranas ficaram submersas em solução tampão fosfato (PBS) e medido a concentração do fluido por determinados períodos de tempo.

Foi adicionado 30 mL de PBS nas placas e o material ficou totalmente coberto pelo fluido. Foi medido a concentração de papaína através de um espectrofotômetro (modelo Serie Biomate™ 3 da Thermo Electron Corporation) com incidência de 280 nm. Foram coletados alíquotas no tempo = 0 (solução tampão pura), posteriormente $t = 0,5$ h, e então medido a cada hora até que não houvesse mudança significativa na medida da concentração do fluido.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1.1 Concentração

Os resultados mostraram que aumentando a concentração da solução da enzima aumenta a quantidade da mesma difundida na membrana. Assim, a concentração ideal é de 2%, acima disso a papaína não é tão solúvel no tampão (Figura 2a).

3.1.2 pH

O pH que houve maior difusão da enzima foi no meio ácido, a membrana ficou mais íntegra e as cargas dos ácidos carboxílicos ficam negativos, aumentando a interação da proteína com a membrana (Figura 2b).

3.1.3 Temperatura

Descobriu-se que a temperatura ideal de imobilização foi 25°C (Figura 2c).

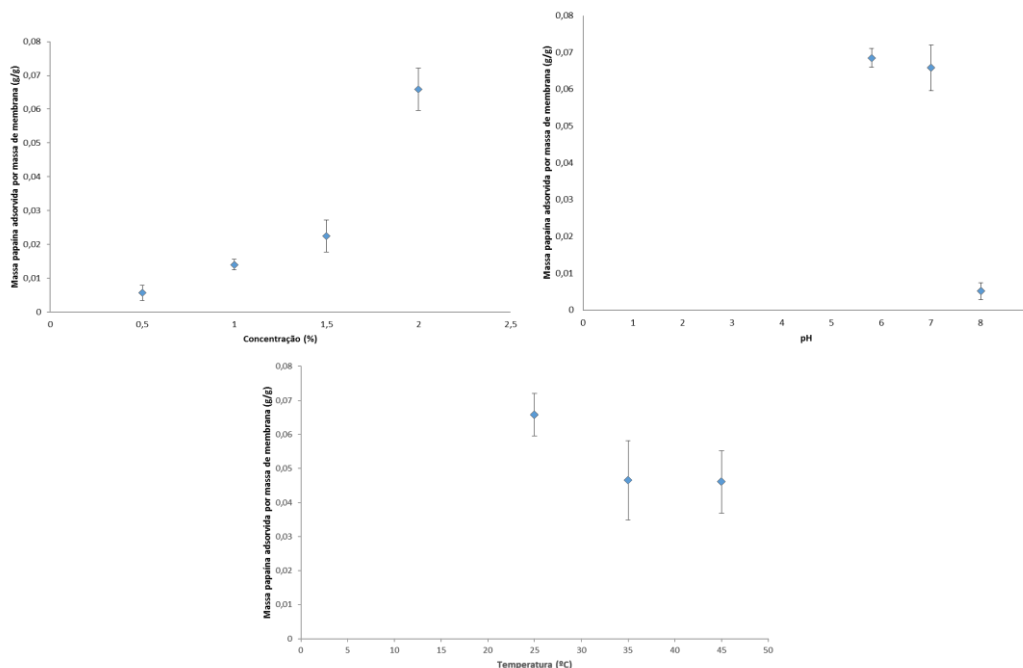


Figura 2 – Massa de papaína adsorvida por massa de membrana de AlgCa variando a) concentração b) pH e c) temperatura



XXII CONGRESSO
BRASILEIRO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
23 a 26 de Setembro de 2018
Hotel Maksoud Plaza
São Paulo – SP



XVII ENCONTRO BRASILEIRO
SOBRE O ENSINO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
27 a 28 de Setembro de 2018
USP
São Paulo – SP

3.2. Atividade da enzima

O teste de atividade mostrou que a papaína continuou ativa depois da imobilização, possuindo uma atividade de 4,53 U/g.

3.3. Liberação da enzima

O perfil de liberação mostrou que aproximadamente 97% da enzima foi liberada entrando em equilíbrio após 6 horas de sua imersão com o meio.

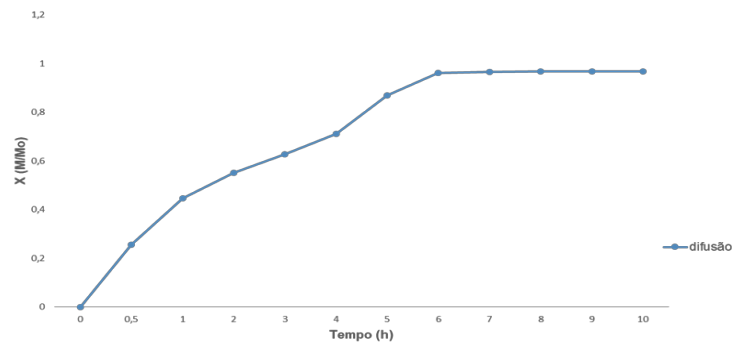


Figura 3 – Perfil de liberação da enzima em PBS

4. CONCLUSÃO

Observou-se que o método de imobilização por difusão física obteve êxito, pois houve uma quantidade significativa de enzima ativa e liberada pelo suporte. A melhor condição para a adsorção foi a concentração de papaína a 2%, pH a 5,8 e temperatura a 25°C.

Com base nos dados de liberação e atividade, foi obtido um curativo bioativo com potencial para ser usado como biomaterial no tratamento lesões cutâneas.

5. REFERÊNCIAS

BATISTUZZO, J.A.O.; ETO, Y.; ITAYA, M. Formulário Médico - Farmacêutico, Tecnopress, 3a edição, 2006.

CHAUDHARI, S. A.; KAR, J. R.; SINGHAL, R. S. Immobilization of Proteins in Alginate: Functional Properties and Applications. Current Organic Chemistry, p 19, 2015

GOMBOTZ, W. R.; WEE, S. F. Protein release from alginate matrices. Advanced Drug Delivery Reviews, 64, p 194-205, 2012.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. Progress in Polymer Science, 37, p 106-126, 2012.

PAUL, W.; SHARMA, C.P. Chitosan and alginate wound dressings: a short review, Trends Biomat. Artific. Org. 18 (2004) 18-23

RATNER, B. D. Biomaterials science: an introduction to materials in medicine. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 2013.